

VU Research Portal

The role of inflammation in the pathophysiology of acute myocardial infarction

Krijnen, P.A.J.

2009

[Link to publication in VU Research Portal](#)

citation for published version (APA)

Krijnen, P. A. J. (2009). *The role of inflammation in the pathophysiology of acute myocardial infarction*. [PhD-Thesis - Research and graduation internal, Vrije Universiteit Amsterdam].

General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal ?

Take down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

E-mail address:

vuresearchportal.ub@vu.nl

Het acute myocard infarct

Een hartinfarct of myocardinfaet ontstaat doordat een bloedvat dat een gedeelte van het hart van zuurstofrijk bloed voorziet verstopt raakt, bijvoorbeeld door een bloedprop (thrombus), met als gevolg dat dit deel van het hart onvoldoende zuurstof en metabolielen ontvangt. In dit gebied van het hart ontstaat dan een toestand van ischemie (een tekort aan zuurstof en metabolielen). Als gevolg hiervan sterven hartspiercellen (cardiomyocyten) af of raken beschadigd. Een gedeelte van de mensen die een hartinfarct krijgt overlijdt hieraan. Bij mensen die een hartinfarct overleven is wel blijvende schade ontstaan in het hart. Dit kan leiden tot verlies van hartfunctie; door het infarct gaat namelijk hartspierweefsel verloren waardoor bijvoorbeeld de pompcapaciteit van het hart verminderd. Dit kan resulteren in hartfalen. Hoe meer schade is ontstaan door het hartinfarct, hoe groter de kans op hartfalen is.

Bij mensen die een hartinfarct doormaken is het eerste klinische ingrijpen erop gericht de bloedtoevoer naar het hart weer op gang te krijgen, de reperfusie therapie. Dit kan op verschillende manieren. Een veel voorkomende behandeling is de percutane transluminale coronair angioplastiek (PTCA; dotter) behandeling, waarbij d.m.v. een ballonnetje het vat mechanisch wordt verwijdt. Eventueel kan hierbij ook een stent (gazen kokertje) in het bloedvat worden geplaatst om het bloedvat open te houden. Ook CABG (coronary artery bypass grafting) is een optie, waarbij chirurgisch nieuwe bloedvaten op het hart worden geplaatst. Er worden ook medicamenten gebruikt om de bloedtoevoer te bevorderen zoals bloedverduunners (b.v. heparine) en antistolling d.m.v. de zogenaamde thrombolytica (b.v. streptokinase). Echter, reperfusie therapie heeft ook een keerzijde. Reperfusie van het ischemisch myocardium kan namelijk additionele schade veroorzaken. We spreken dan van reperfusieschade, waarin ontsteking een belangrijke rol speelt.

Ontsteking

Ontsteking (inflammatie) in de breedste zin van het woord is de (immunologische) reactie van het lichaam op prikkels van binnen (bv. weefselschade) of prikkels van buiten (bv. infectie), met als doel het herstellen van de schade of verwijderen van een infectieuze agens. Bij ontsteking kunnen tal van verschillende componenten betrokken zijn: ontstekingscellen (zoals neutrofiële granulocyten en macrofagen) en ook ontstekingsmediatoren (zowel pro- als anti-inflammatoire eiwitten/peptiden en andere verbindingen). In de meeste gevallen heeft de ontsteking een effect dat als nuttig voor het lichaam mag worden beschouwd, zoals het opruimen en herstellen van weefselschade na een wond. Echter het wordt steeds meer duidelijk dat ontsteking tevens kan bijdragen aan het veroorzaken van additionele schade in verschillende ziektebeelden, waaronder reuma en de cardiovasculaire aandoeningen atherosclerose en het acute myocardinfaet.

Atherosclerose en ontsteking

Atherosclerose is een aandoening waarbij vaatvernauwing optreed (eigenlijk alleen in arteriën) door het ontstaan van atherosclerotische plaques in de vaatwand. Atherosclerotische plaques ontstaan door de opeenhoping van vetachtige structuren als lipoproteïnen (LDL) en extracellulaire matrix componenten tussen het endotheel (de binnenbekleding van een bloedvat) en de gladde spiercellen. Het wordt steeds meer duidelijk dat ontsteking, zowel ontstekingscellen als ontstekingsmediatoren, een belangrijke rol speelt bij de pathofysiologie van atherosclerose. In hoofdstuk 1 staat een en ander beschreven over het proces van atherosclerose en de rol hierin van o.a. het ontstekingseiwit type IIA secretair Phospholipase A₂ (sPLA₂-IIA) en macrofagen.

Er wordt bij atherosclerotische plaques een onderscheid gemaakt tussen stabiele en instabiele plaques. Stabiele plaques bestaan uit een relatief kleine vetkern en een relatief dik bedekkend bindweefsel kapsel. Instabiele plaques worden gekenmerkt door een relatief grote vetkern en een dun bedekkend bindweefsel kapsel. Dit laatste type plaques is vooral gevaarlijk omdat plaque instabiliteit kan leiden tot plaque complicaties zoals een plaqueruptuur met als mogelijk gevolg het ontstaan van een stolsel of thrombus op de plaque. Dit kan leiden tot het afsluiten van het bloedvat en tot infarcering. Op deze manier kan ontsteking dus bijdragen aan het ontstaan van een hartinfarct.

Acuut myocardinfarct en ontsteking

Zoals eerder vermeld sterven er als gevolg van de ischemie hartspiercellen af, met name op die plekken waar de belemmering van de zuurstof/bloedvoorziening het sterkst is. Daaromheen is de ischemie minder absoluut door een gedeeltelijke bloedtoevoer uit aangrenzende bloedvaten die niet afgesloten zijn. Op deze plekken, die we border zones noemen, worden hartspiercellen in meer of mindere mate beschadigd, maar zijn niet dood op het moment dat de bloedtoevoer na een infarct weer tot stand is gebracht (reperfusie). Een gedeelte van deze beschadigde cellen is reversibel (omkeerbaar) beschadigd en dus nog levensvatbaar. Na reperfusie komt een ontstekingsreactie op gang, met als doel het opruimen van dood hartweefsel (opruimfase) en in een daaropvolgende fase ervoor te zorgen dat verbindweefseling op de plaats waar hartspierweefsel is afgestorven optreedt (helingsfase). Dit is van eminent belang omdat anders een zwakke hartwand zou ontstaan die zou kunnen scheuren (hartruptuur). Tijdens de opruimfase infiltreren grote hoeveelheden ontstekingsmediatoren, waaronder sPLA₂-IIA, C-reactive protein (CRP) en complement, en ontstekingscellen, waaronder neutrofiele granulocyten, het infarctgebied.

Eerder hebben we al laten zien dat sPLA₂-IIA aan deze reversibel beschadigde cellen bindt en of zelf, of met behulp van CRP en complement, kan zorgen dat deze reversibel beschadigde cellen alsnog afsterven. Deze sPLA₂-IIA - CRP - complement ontstekingscascade is een belangrijke initiator van extra ontstekingsschade in het geïnfarceerde hart.

Ontsteking bij het ontstaan van een acuut myocardinfarct

Zoals vermeld is het bekend dat het ontstekingseiwit sPLA₂-IIA betrokken is bij de pathogenese van atherosclerose. sPLA₂-IIA knipt vetzuren vrij uit membraanfosfolipiden die precursors vormen voor ontstekingsbevorderende eicosanoiden. Membraanfosfolipiden waaruit door sPLA₂-IIA een vetzuur is vrij geknipt is zijn lysofosfolipiden. Deze lysofosfolipiden vormen bindingsplaatsen voor CRP dat op zijn beurt weer complement kan activeren. Bovendien is sPLA₂-IIA zelf in staat cellen te doden. In hoofdstuk 2 laten we zien dat sPLA₂-IIA significant meer tot expressie komt in coronaire plaques die een hartinfarct hebben veroorzaakt dan in coronaire plaques van patiënten met angina pectoris. Dit sPLA₂-IIA zou betrokken kunnen zijn bij de sterfte van gladde spiercellen in de plaque wat bijdraagt tot plaque instabiliteit. Dit impliceert dat sPLA₂-IIA betrokken is bij het ontstaan van plaque complicaties en dus ook het hartinfarct.

Aftakkingen van de op het hart liggende (epicardiale) coronair arteriën gaan de hartwand in en liggen dus ingebed in het hartspierweefsel. We spreken dan van intramyocardiale arteriën. In hoofdstuk 3 hebben we de accumulatie van advanced glycation end-products (AGEs) onderzocht in deze intramyocardiale arteriën, meer specifiek de AGE ^εN-carboxymethyllysine (CML). AGEs zijn het product van non-enzymatische versuikering van eiwitten, wat de functie van deze eiwitten verstoort. AGEs ontstaan bij het ouder worden en in een versneld tempo in mensen met diabetes. Wij vonden significant meer accumulatie van CML in de intramyocardiale arteriën van het linker ventrikel in hartinfarct patiënten dan in controle patiënten. Deze patiënten hadden geen diabetes. Het CML werd verhoogd gevonden in de intramyocardiale arteriën van de gehele linker ventrikel, niet alleen in het infarctgebied, en werd al kort na het ontstaan van het infarct gevonden. Bovendien hebben we in vitro en in een rat hartinfarct model laten zien dat CML waarschijnlijk niet als gevolg van een infarct is ontstaan maar al voor het infarct is geaccumuleerd. Tevens correleerde de accumulatie van CML in de intramyocardiale arteriën niet met de afwijkingen van de epicardiale coronair arteriën. Al eerder is aangetoond dat CML, via de receptor voor AGEs (RAGE), adhesie moleculen (E-selectin, ICAM-1) op het endotheel kan opreguleren waardoor dit endotheel pro-inflammatoir wordt. Dit impliceert een mogelijke rol voor intramyocardiale arteriën en CML geïnduceerde ontsteking hierin, in de pathofysiologie van het hartinfarct en wellicht in het ontstaan van een infarct.

Deze twee studies, sPLA₂-IIA in epicardiale coronair arteriën en CML in de intramyocardiale arteriën, onderschrijven de rol van ontsteking in afwijkingen van cardiale bloedvaten die kunnen leiden tot infarcering.

Ontsteking na een acuut myocardinfarct

Dood van hartspiercellen

Als gevolg van een hartinfarct gaan dus hartspiercellen dood. Celdood kan grofweg via twee processen plaatsvinden: apoptose en necrose. Apoptose is de gereguleerde vorm van celdood; het zichzelf termineren en afbreken van de cel vindt plaats op een gereguleerde wijze via verschillende signaleringsroutes die uiteindelijk leiden tot de activatie van caspases oftewel 'eiwit afbrekers'. Voor het uitvoeren van apoptose heeft een cel energie nodig. Bij necrose is het zichzelf termineren en afbreken van de cel minder gereguleerd (door gebrek aan energie), wat leidt tot het uiteenvallen van de cel. In het infarct hart vinden beide processen plaats. In gebieden waar door intense ischemie de cellulaire energie geheel gereduceerd is, zullen cellen in necrose gaan. In gebieden waar nog cellulaire energie is, vermoedelijk in border zones tijdens het infarct of na reperfusie, zullen hartspiercellen in apoptose gaan. Eerder is al aangetoond dat zuurstofradicalen of ROS (reactive oxygen species) bij het proces van apoptose een rol spelen. In hoofdstuk 7 laten we voor het eerst zien dat het ROS producerende eiwit Nox2 tot expressie wordt gebracht in humane hartspiercellen en dat de expressie hiervan wordt opgereguleerd in hartspiercellen in het infarctgebied in patiënten met een hartinfarct. In hoofdstuk 8 laten we vervolgens in vitro zien dat dit Nox2 zich in hartspiercellen als gevolg van ischemie naar de celkern verplaatst en daar ROS produceert. Deze Nox2 geproduceerde ROS in de celkern spelen een belangrijke rol bij het proces van apoptose in deze hartspiercellen, aangezien deze cellen niet in apoptose gaan als we deze Nox2 gerelateerde ROS productie remmen.

Membraan flip-flop en reversibel beschadigde cellen

In de border zones bevinden zich ook hartspiercellen die reversibel beschadigd zijn. Zoals eerder vermeld kan reperfusie van het hart na een infarct additionele schade veroorzaken en de sPLA₂-IIA – CRP – complement ontstekingscascade speelt hierin een belangrijke rol. Hierbij is de binding van sPLA₂-IIA aan reversibel beschadigde hartspiercellen een belangrijke initiële stap. sPLA₂-IIA bindt wel aan (reversibel) beschadigde cellen, maar niet aan gezonde cellen en kan dus tussen de twee discrimineren. Eerder hebben we laten zien dat de hartspiercellen waaraan sPLA₂-IIA bindt een membraanverandering hebben ondergaan. Deze cellen exposeren het membraan fosfolipid phosphatidylserine (PS), wat in gezonde cellen actief in de binnenlaag van de celmembraan wordt gehouden door een transmembraan eiwit genaamd flippase, in de buitenlaag van de celmembraan. Dit proces heet ook wel membraan flip-flop. Membraan flip-flop is een kenmerk van cellen die in apoptose zijn en dus dood gaan. Daarnaast echter komt membraan flip-flop voor in cellen die reversibel beschadigd zijn, zoals we laten zien in hartspiercellen in hoofdstuk 13. Membraan flip-flop in reversibel beschadigde hartspiercellen is dus een belangrijk kenmerk waarop de ontsteking kan aangrijpen en zo zorgen voor extra schade in het hart na een infarct.

In hoofdstuk 6 hebben we geanalyseerd of RhoA – ROCK signalering is betrokken bij dit proces van membraan flip-flop. We vonden dat remming van RhoA – ROCK activiteit leidt tot membraan flip-flop in hartspiercellen en tevens tot een verlaging van flippase activiteit, wat kan verklaren waarom deze cellen membraan flip-flop vertonen. Deze data laat zien dat in hartspiercellen RhoA – ROCK signalering nodig is om membraan flip-flop te voorkomen. Of dit een rol speelt in het hart na een infarct moet nog verder worden onderzocht.

We zien dus dat in het hart na een infarct hartspiercellen sterven, zowel door apoptose, met hierin waarschijnlijk een rol voor Nox2 geproduceerde ROS, en ook necrose. Bovendien ontstaan reversibel beschadigde hartspiercellen. Membraan flip-flop vindt in al deze cellen plaats. sPLA₂-IIA grijpt aan op cellen met membraan flip-flop en doodt deze cellen, of rechtstreeks of via CRP – complement activatie. Dit zorgt voor de opruiming van reeds dode cellen, maar resulteert ook in extra schade door het doden van reversibel beschadigde hartspiercellen.

Activatie van complement in het infarct hart

Er komt na reperfusie in het hart dus een ontstekingsreactie op gang, waarin sPLA₂-IIA, CRP en uiteindelijk de activatie van het complement systeem een belangrijke rol spelen. Complement zorgt voor cellysis en voor het aantrekken van neutrofiele granulocyten. In hoofdstuk 10 laten we zien dat in patiënten die na een hartinfarct reperfusie therapie hebben ontvangen, te weten streptokinase of CABG,

significant meer deposities hebben van CRP en complement in het hart, dan patiënten die geen reperfusie therapie hebben ontvangen. Dit geldt overigens niet voor patiënten die PTCA als reperfusie therapie hebben ondergaan. Ook patiënten die een reinfarct ondergaan, d.w.z. deze mensen ondergaan een tweede infarct binnen twee weken na het eerste infarct hebben meer deposities van CRP en complement. Extensievere deposities van CRP en complement impliceert meer schade in het hart. Deze data toont aan dat de methode van reperfusie therapie invloed kan hebben op de uiteindelijke schade in het hart na een hartinfarct. Bovendien zorgt een tweede infarct relatief kort na het eerste infarct voor een vergrootte ontstekingsrespons, wat leidt tot meer schade in het hart na een hartinfarct.

Dat CRP complement kan activeren op cellen was al langer bekend. We hebben eerder al aangetoond dat dit ook gebeurt in het infarct hart. Een andere bekende activator van complement is de immunoglobuline IgM. Dit IgM activeert complement b.v. op infectueuze bacteriën. In hoofdstuk 11 laten we zien dat IgM in het infarct hart colocaliseert met CRP en complement. Deze data impliceert dat complement in het hart na een hartinfarct ook geactiveerd kan worden door IgM.

Therapie en het hartinfarct

De activatie van de sPLA₂-IIA – CRP – complement ontstekingscascade draagt dus bij aan de extra schade in het hart na een hart infarct. Remming van deze cascade zou deze schade in het kunnen beperken. Het is echter wel van cruciaal belang dat de opruiming van dood weefsel niet wordt geremd, omdat dan de helingfase, en dus de verbindweefseling, wordt verstoord. Zoals vermeld leidt dit tot een verzwakte hartwand en mogelijk een hartruptuur, wat de dood tot gevolg heeft. Het interveniëren in post-infarct ontsteking mag dus nooit ten koste gaan van de wondheling (zie ook hoofdstuk 9).

In hoofdstuk 12 laten we zien dat een remmer van sPLA₂-IIA, PX18 genaamd, de infarctgrootte inderdaad kan verkleinen in een hartinfarct model in de rat. Bovendien laten we zien in vitro dat PX18, naast het remmen van sPLA₂-IIA, de mate van membraan flip-flop kan remmen in hartspiercellen. Op deze manier kan PX18 een dubbel effect hebben in het hart na een infarct: het remt sPLA₂-IIA en remt de beschikbaarheid van bindingsplaatsen voor sPLA₂-IIA op hartspiercellen. Het gebruik van PX18 had geen effect op succesvolle wondgenezing. Dit komt vermoedelijk omdat remming van sPLA₂-IIA geen invloed heeft op de bindingscapaciteit van CRP en complement op dode cellen; deze worden nog steeds opgeruimd. Deze studie toont in vivo aan dat specifieke remming van ontstekingseiwitten extra schade in het hart na een infarct kan beperken, waardoor uiteindelijk dus minder hartschade ontstaat en dus ook minder kans op hartfalen.

In hoofdstuk 13 hebben we clusterine bestudeerd in het hartinfarct. Clusterine is een veelzijdig eiwit dat uitgebreid in het lichaam voor komt en betrokken is bij veel verschillende processen. Eerder werd al bekend dat clusterine celbeschermend kan werken vanwege zijn remmend effect op complement activatie. Ook was aangetoond dat clusterine colocaliseert met complement in het infarct hart. Dit wijst erop dat ook anti-inflammatoire componenten in het infarct hart komen, vermoedelijk om de ontsteking in te tomen. Wij tonen nu aan dat clusterine ook in de border zones op hartspiercellen wordt gevonden, dus zonder complement. Bovendien tonen we in vitro aan dat clusterine hartspiercellen beschermt tegen ischemie geïnduceerde celdood, onafhankelijk van complement. Ook het verhogen van clusterine levels zou dus een mogelijk therapeuticum kunnen zijn om extra schade in het hart na een infarct te beperken. Intussen hebben we het verhogen van clusterine bloed levels getest op de infarctgrootte in het hartinfarct model in de rat. Het verhogen van de clusterine bloed levels leidde inderdaad tot kleinere infarctgrootte, terwijl het geen effect had op succesvolle wondgenezing.

Conclusie

De studies in dit proefschrift hebben de notie dat ontsteking een belangrijke speler is in de pathofysiologie van het hartinfarct versterkt. We hebben laten zien dat ontsteking in bloedvaten in en op het hart een rol kunnen spelen in het ontstaan van een hartinfarct. Bovendien hebben we het bestaan laten zien van reversibel beschadigde hartspiercellen en dat bepaalde ontstekingsmediatoren aan deze cellen gaan binden en ze doden omdat ze d.m.v. membraan flip-flop signaleren dat ze gestrest zijn. Ook laten we zien dat remming van deze bepaalde ontstekingsmediatoren in vivo kan leiden tot het verminderen van hartschade na een infarct en dus een betere prognose.